UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

KATEDRA IMMUNOLOGII, PATOFIZJOLOGII I PREWENCJI WETERYNARYJNEJ

Prof. dr hab. n. wet. Tadeusz Stefaniak

Wrocław 28.03.2022

Ocena osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego doktor inżynier Agnieszki Herosimczyk, ubiegającej się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego

(wniosek do Rady Doskonałości Naukowej z 9.08.2021 o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo)

Wykonana na podstawie uchwały nr 235 Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z 29.listopada 2021 r. w sprawie powołania Komisji Habilitacyjnej w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr inż. Agnieszce Herosimczyk, stosownie do decyzji Rady Doskonałości Naukowej ustalającej skład komisji habilitacyjnej (Z4.4000.40.2021.4.AF) i przekazującej dokumentację do dalszego postępowania w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym (Z4.4000.40.2021.2.AF)

Informacje o wykształceniu i przebiegu kariery zawodowej Habilitantki

Dr inż. Agnieszka Herosimczyk ukończyła w 2005 roku studia magisterskie na kierunku zootechnika na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt Akademii Rolniczej w Szczecinie. Praca magisterska pt. „Proteomowa analiza ekspresji białek osocza po spożyciu tłuszczu" została wykonana pod kierunkiem dr hab. Małgorzaty Ożgo powstała z wykorzystaniem techniki analizy białek wykorzystywanej także w dalszych etapach pracy naukowej Kandydatki. Rozprawę doktorską „Zmiany proteomu osocza krwi cieląt w pierwszym tygodniu życia" wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. Wiesława Skrzypczaka i obroniła na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie uzyskując stopień naukowy doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika, specjalności fizjologia Zwierząt.

HR EXCELLENCE IN RESEARCH

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU
ZAKŁAD IMMUNOLOGII I PREWENCJI WETERYNARYJNEJ
ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław
tel. 71 320 52 36 • fax 71 320 52 46
e-mail: tadeusz.stefaniak@upwr.edu.pl • www.upwr.edu.pl

Pracę doktorską realizowała jako stypendystka programu „Inwestycja w wiedzę motorem innowacyjności w regionie" realizowanego w latach 2008-2010 przez Wojewódzki Urząd Pracy w Szczecinie.

Wkrótce po uzyskaniu stopnia naukowego doktora została zatrudniona w Katedrze Cytobiologii i Proteomiki macierzystego Wydziału początkowo na stanowisku adiunkta jako pracownik naukowo-dydaktyczny (2010-2011), następnie jako pracownik naukowy (2011-2013) i ponownie jako pracownik naukowo-dydaktyczny i na tym stanowisku pracuje do chwili obecnej.

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe pt.: „Analiza porównawcza proteomu wybranych tkanek oraz surowicy krwi rosnących świń żywionych mieszankami paszowymi o różnym dodatku inuliny (1, 2 i 3%)" Kandydatka przedstawiła cykl 4 prac opublikowanych w latach 2015-2020, w czasopismach z listy JCR o łącznym współczynniku wpływu (IF): 6,038, ocenionych wg listy MNiSW na 275 punktów. Dwa spośród czasopism w których zostało opublikowane osiągnięcie naukowe (Animal i Livestock Science) należą do wiodących w dyscyplinie zootechnika. Udział dr Herosimczyk w powstaniu tych prac został oszacowany na 60% i we wszystkich była pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Wszyscy współautorzy zgodnie potwierdzili wiodącą rolę dr inż. Agnieszki Herosimczyk w powstaniu publikacji składających się na osiągnięcie naukowe. Badania zostały sfinansowane przez projekt Narodowego Centrum Nauki SONATA nr 2012/05/D/NZ9/01604, którym kierowała i którego wykonanie zostało pozytywnie rozliczone.

Celem badań naukowych w prezentowanym cyklu publikacji było określenie wpływu suplementacji diet rosnących świń różnym procentowym dodatkiem natywnej inuliny ekstrahowanej z cykorii na zmiany proteomu jelita cienkiego oraz grubego, wątroby, surowicy krwi, jak również ocena zmian wybranych wskaźników przemian biochemicznych w tkankach oraz osoczu krwi tych zwierząt. Ocenie poddano zmiany w proteomie błony śluzowej kilku wybranych odcinków jelit i wątroby, zmiany statusu mineralnego, zmiany biochemiczne krwi, a także na poziomie molekularnym indukowane przez zastosowanie kilku wybranych wysokości dodatku inuliny do karmy rosnących prosiąt.

Osiągnięcie naukowe wpisuje się w obszar badań inspirowanych potrzebą poszukiwania w chowie zwierząt rozwiązań alternatywnych dla antybiotyków w zapobieganiu i leczeniu chorób. W ciekawie przeprowadzonej analizie literatury Kandydatka sugerowała prawdopodobne mechanizmy korzystnego/modulującego oddziaływania dodatku prebiotyków na funkcję przewodu pokarmowego. Zwróciła też uwagę na oddziaływanie w świetle jelita wybranych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (KKT) powstających w wyniku jelitowej fermentacji bakteryjnej inuliny jak i po ich wchłonięciu przez komórki nabłonka jelitowego.

W doświadczeniach opisanych w cyklu prac stosowano komercyjnie dostępny preparat zawierający 92% inuliny o stopniu polimeryzacji przekraczającym 10, izolowanej z korzenia cykorii. Prosięta od 10 dnia życia otrzymywały w karmie dodatek 1,2 lub 3% tego prebiotyku. Stwierdzono zarówno lokalny (np. na błonę śluzową różnych odcinków jelita), jak i ogólnoustrojowy efekt dodatku inuliny. Najsilniejsze korzystne oddziaływanie na błonę śluzową stwierdzono w jelicie ślepym (w porównaniu do proksymalnego lub dystalnego odcinka jelita grubego). Ciekawym spostrzeżeniem jest, że dawki 1% i 3% omawianego prebiotyku niekiedy wywoływały odwrotny efekt na ekspresję genów i syntezę niektórych białek. Na podstawie zmian ich ekspresji stwierdzono, że dodatek 1% inuliny powodował hamujący wpływ na aktywność proliferacyjną komórek nabłonka jelita krętego, a dodatek 3% tego samego probiotyku wywierał wpływ stymulujący proliferację komórek nabłonka tego odcinka jelita. W dystalnym odcinku okrężnicy prosiąt żywionych 3% dodatkiem inuliny stwierdzono 4 krotny wzrost ekspresji winkuliny, białka pełniącego istotną rolę w utrzymaniu integralności błony śluzowej jelit. Zdaniem Autorki zmiany ekspresji białek związanych z metabolizmem komórkowym były ściśle związane z dostępnością substratów energetycznych. Biorąc pod uwagę fakt, że w jelicie ślepym i początkowym odcinku okrężnicy głównymi substratami energetycznymi są KKT, a szczególnie kwas masłowy, ich wzrost w następstwie podania inuliny mógł spowodować uaktywnienie mechanizmów ograniczających niekontrolowaną proliferację komórek nabłonkowych. To zjawisko może uzasadniać zaobserwowane w jelicie ślepym obniżenie ekspresji białek zaangażowanych w komórkowy metabolizm energetyczny oraz proces glikolizy. Wykazano także, że obie porównywane dawki inuliny powodowały wzrost ekspresji szeregu enzymów mitochondrialnych zaangażowanych w cykl Krebsa, jednocześnie tylko dawka

3% inuliny (w przeciwieństwie do 1%) istotnie wpływała na zmianę ekspresji 27 spotów białkowych w wątrobie prosiąt. Także w przypadku wyższej dawki dodatku inuliny stwierdzono obniżenie ekspresji podjednostki beta białka SCS odpowiedzialnego za katalizowanie konwersji bursztynylo-CoA do kwasu bursztynowego, ale także zwiększenie ekspresji podjednostki β syntazy ATP. Powinno to wskazywać na nasilenie procesów glukoneogenezy. Jednak wzrost depozycji trójglicerydów i cholesterolu w wątrobie prosiąt (co stwierdzono przy stosowaniu obu dawek inuliny) może wskazywać raczej na ryzyko infiltracji tłuszczowej tego narządu.

Ten wyższy (3%) dodatek inuliny do karmy prosiąt wpływał na poprawę osoczowego statusu oksydacyjno-antyoksydacyjnego. Także stężenie jonu chlorkowego w osoczu krwi wzrastało istotnie po zastosowaniu 3% dodatku badanego prebiotyku, w porównaniu do 1%. Autorka wskazała na związek resorpcji zwrotnej jonu chlorkowego z sodowym w kanalikach nerkowych i podjęła próbę interpretacji wpływu różnej wielkości dodatków na status tych głównych jonów pozakomórkowej przestrzeni wodnej organizmu. Pewną trudność w ocenie sprawia fakt, że w innych badaniach poruszających to zagadnienie, w których także uczestniczyła Kandydatka stosowano inne, niż w omawianym cyklu wielkości dodatków inuliny w karmie.

Wśród wniosków proponowanych przez Kandydatkę, podsumowujących wyniki uzyskane w osiągnięciu naukowym warto podkreślić, że jakkolwiek wszystkie wysokości dodatku natywnej inuliny do karmy prosiąt wywołały modyfikację proteomu jelit, wątroby i surowicy, to najsilniejszy efekt wystąpił przy zastosowaniu dawki 3%, ale też na niektóre procesy efekt dawki 1% i 3% był odmienny. Kolejnym ważnym stwierdzeniem jest to, że w korzystnym wpływie dodatku inuliny na jelito znaczący efekt przynoszą jej metabolity, szczególnie kwas masłowy, który jest podstawowym metabolitem energetycznym dla komórek nabłonka jelita ślepego i proksymalnej części okrężnicy. Sprzyja to proliferacji i różnicowaniu się komórek nabłonka. Trudniejsze w interpretacji wydaje się zjawisko powodowania przez 3% dodatek inuliny wzrostu depozycji trójglicerydów i cholesterolu całkowitego w wątrobie, przy jednoczesnym obniżeniu frakcji HDL i cholesterolu w osoczu krwi. Korzystne efekty dodatku inuliny wiążą się , jak się wydaje z działaniem przeciwzapalnym i antyoksydacyjnym, czego

dowody obserwowano na poziomie wątroby, błony śluzowej jelita biodrowego i ślepego, ale także w osoczu krwi.

Podsumowując, należy stwierdzić, że wyniki osiągnięcia naukowego zostały uzyskane przy użyciu bogatego, nowoczesnego zaplecza laboratoryjnego. Stawiane były dobrze sprecyzowane pytania, na które w większości uzyskiwano dokładne, udokumentowane wynikami odpowiedzi. Dorobek robi wrażenie spójnego i świadczy o dużej samodzielności i świetnej znajomości przedmiotu badań.

Ocena aktywności naukowej Kandydatki

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora zainteresowania naukowe Kandydatki były zdominowane przez wdrożenie narzędzi proteomicznych do badania czynności nerek noworodków zwierząt kopytnych. Warto tu zauważyć, że w latach 2008-2009 była głównym wykonawcą grantu promotorskiego NN311318836 poświęconego ocenie zmian proteomu osocza krwi cieląt w pierwszym tygodniu życia, co było podstawą rozprawy doktorskiej obronionej i wyróżnionej w 2010 roku. Ponadto była uczestniczką badań Katedry Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki nad fizjologią okresu neonatalnego zwierząt gospodarskich, m.in. uczestniczyła w analizie frakcji białek niskocząsteczkowych wydalanych z moczem przez koźlęta w pierwszym miesiącu tygodniu ich życia.

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora zainteresowania naukowe Kandydatki poszerzyły się. Nadal podejmowała badania dotyczące fizjologii okresu neonatalnego cieląt i stosowała badania proteomiczne poświęcone analizie składu białkowego płynów ustrojowych i tkanek zwierząt gospodarskich. Wykazano m.in., że w pierwszych tygodniach życia cieląt dochodzi do procesów zarówno anabolicznych, jak i katabolicznych, pierwsze pobranie siary powoduje zwiększenie intensywność przemian metabolicznych, szczególnie gospodarki lipidowej. Kontynuowała badania nad adaptacyjnymi zmianami czynności nerek u cieląt, m.in. potwierdziła wysoką sprawność w zakresie regulacji równowagi elektrolitowej. Wykazała także, że nadmierna podaż laktozy indukuje wzrost ekspresji białek ostrej fazy w krwi i moczu. Stworzyła profil białkowy osocza cieląt w 7 dniu życia. Opracowała ze współpracownikami mapę białkową odzwierciedlającą charakterystyczną dystrybucję białek surowicy krwi 50 dniowych prosiąt. Wykorzystując narzędzia proteomiczne udało się zidentyfikować 12 białek,

które nigdy wcześniej nie zostały wykazane w surowicy. Z kolei w moczu 6 dniowych cieląt, przy połączeniu technik 2DE, MALDI-TOF-TOF-MS/MS i 1DE z LC-MS/MS zidentyfikowano 692 produkty ekspresji genów. W ciekawej pracy poświęconej charakterystyce proteomu wątroby rosnących świń zidentyfikowano 265 białek, w tym szereg białek istotnych w przemianach metabolicznych.

Ważna część zainteresowań naukowych została poświęcona wpływowi dodatku prebiotyków i synbiotyków na ekspresję genów oraz białek w narządach, tkankach i płynach ustrojowych zwierząt. Oceniano zarówno efekty dodatku prebiotyków do paszy zwierząt, jak też zastosowania prebiotyków i synbiotyków podawanych *in ovo*, na ekspresję szeregu genów związanych z metabolizmem. Stwierdzono immunomodulujący efekt synbiotyku zastosowanego *in ovo*.

Kandydatka podejmowała także próby wykorzystania narzędzi proteomicznych w celu charakterystyki procesów patofizjologicznych u ludzi, zwierząt laboratoryjnych i gospodarskich. Poszukiwano zmian proteomu charakterystycznych dla pojedynczych jednostek chorobowych, które potencjalnie mogłyby zostać wykorzystane w diagnostyce.

Zagadnienia medycyny człowieka stały się przedmiotem badań nad wpływem diety wysokotłuszczowej na zdrowie. U ludzi przy u życiu elektroforezy dwukierunkowej i spektrometrii mas typu MALDI-TOF wykazano, że 4 godziny po spożyciu diety wysokotłuszczowej dochodzi do zmiany ekspresji 22 spotów białkowych, szczególnie do wzrostu białek związanych z procesem hemostazy. U myszy żywionych przez 3 miesiące dietami wysokotłuszczowymi zawierającymi nasycone kwasy tłuszczowe dochodziło do hipertrofii i zwłóknienia mięśnia sercowego, a ponadto do wzrostu białek zaangażowanych w metabolizm lipidów.

Ciekawym przyczynkiem naukowym jest analiza zmian proteomu w okresie przedimplantacyjnym u myszy, gdzie stwierdzono, że oddziaływanie prozapalnej cytokiny TNFα na zarodek powoduje zmiany w ekspresji 84 genów w macicy i 8 białek limfocytów T izolowanych ze śledziony.

Dotychczasowy dorobek naukowy Kandydatki jest imponujący, oprócz osiągnięcia naukowego jest współautorką 41 prac oryginalnych , z tego 37 opublikowanych w czasopismach

z listy JCR, 7 prac przeglądowych, w tym 5 w czasopismach z listy JCR, jest też autorką 3 rozdziałów monografii oraz 32 doniesień naukowych na konferencje krajowe i zagraniczne. Łączny IF (bez cyklu prac składających się na osiągnięcie naukowe)wynosi 60,719, a wg oceny MNiSW Kandydatka uzyskała 1596 punktów. Większość dorobku naukowego powstała po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, co dobrze świadczy o rosnącym potencjale publikacyjnym Kandydatki. W 18 publikacjach była pierwszą lub drugą autorką. Według bazy Web of Science (core collection) Jej prace były cytowane 203 razy (bez autocytowań 135), a Indeks Hirscha według tej samej bazy wynosi 9. Wg bazy Scopus Kandydatka była cytowana 218 razy (bez autocytowań 116), a IH także wynosi 9. Z kolei wg bazy Google Scholar liczba cytowań sięga 297, a IH 10. Dość duża liczba autocytowań po części może wynikać z dość ograniczonego spektrum prac innych zespołów na tematy będące przedmiotem badań Kandydatki

Ocena osiągnięć dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki

Kandydatka jeszcze w trakcie studiów magisterskich odbyła dwa staże naukowe (łącznie 5 miesięcy) w Jednostce Żywienia Człowieka Narodowego Instytutu Badań Rolniczych INRA w Saint-Gènes-Champanelle, Francja. Opanowała tam metodykę badań proteomicznych z wykorzystaniem nowoczesnych metod badawczych (MALDI TOF), co z sukcesem wykorzystała w dalszych etapach pracy naukowej. W tym samym ośrodku naukowym odbyła także trzymiesięczny staż naukowy w 2006 roku. Efektem współpracy było między innymi kilka wspólnych publikacji w czasopismach JCR w latach 2006-2013. Odbyła także dwutygodniowy staż szkoleniowy w Katedrze Badań nad Nowotworami i Medycyny Molekularnej Norweskiego Uniwersytetu Nauki i Technologii (NTNU) w Trondheim, Norwegia (2011) oraz dwutygodniowy staż w Zakładzie Żywienia Zwierząt Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN w Jabłonnie.

Działalność dydaktyczną Kandydatki należy uznać za bardzo bogatą. Na macierzystym Wydziale prowadzi zajęcia na trzech kierunkach (zootechnika, biotechnologia, kynologia) z 15 przedmiotów, w tym w 9 z nich wykłady i ćwiczenia. Warto zaznaczyć, że dla studentów Erasmus prowadzi wykłady i ćwiczenia z przedmiotu Proteomics oraz ćwiczenia z Animal Physiology. Prowadziła też zajęcia na dwóch wygaszanych kierunkach studiów. Przedmioty są

ściśle związane z zainteresowaniami naukowymi i specyfiką dydaktyczną Katedry (fizjologia zwierząt, anatomia funkcjonalna, biologia komórki, biologia molekulerna, proteomika, genomika, fizjologia wysiłku, etologia i behawior). W latach 2013-2020 była opiekunką naukową sześciorga studentów z różnych kontynentów w ramach programu IAESTE.

Była promotorką 3 prac magisterskich i 4 inżynierskich. Odbyła cztery zagraniczne staże dydaktyczne w ramach programu Erasmus+ (Uniwersytet Grzegorza Mendla w Brnie 3., Uniwersytet Arystotelesa w Salonikach 1.). Dzięki temu nawiązała kontakt z prof. Petrem Slama który kilkakrotnie odwiedzał ZUT z wykładami dla studentów i pracowników, efektem współpracy jest także jedna wspólna publikacja.

W latach 2016-2019 była członkinią Rady Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt ZUT, jest też członkinią Rady Programowej kierunków biotechnologia, zootechnika i rybactwo i kynologia. W latach 2016-2020 była też członkinią komisji Wydziałowej ds. Erasmus+, a także komisji egzaminacyjnej z języka angielskiego dla doktorantów.

Jest zaangażowana w promowanie nauki, uczestnicząc w kilku edycjach warsztatów „krew darem życia" dla licealistów, prowadziła zajęcia organizowane przez ZUT dla Uniwersytetu Trzeciego Wieku. Współuczestniczyła też w organizacji szeregu warsztatów z zakresu analiz białek metodami elektroforetycznymi dla przedstawiciel polskich ośrodków naukowych, studentów, przedsiębiorców, przedstawicieli Sanepidów, inspektoratów weterynaryjnych i laboratoriów badania produktów spożywczych.

Wniosek końcowy

Podsumowując, mogę stwierdzić, że Habilitantka wykazuje wysoką aktywność we wszystkich zakresach podlegających ocenie (zarówno osiągnięcia naukowego, jak i pozostałej działalności naukowej, organizacyjnej, dydaktycznej). Potrafi samodzielnie zdobywać środki na badania naukowe, nawiązuje krajowe i międzynarodowe kontakty naukowe z innymi ośrodkami badawczymi. Efektywnie łączy te aktywności, jakie dzisiejszy pracownik naukowo-dydaktyczny Uniwersytetu powinien wykazywać. W badaniach często pełni wiodącą funkcję, potrafi także współdziałać z innymi Uczonymi. Na tej podstawie z przyjemnością mogę stwierdzić, że dorobek Pani dr Agnieszki Herosimczyk spełnia kryteria określone w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2022.574) w sprawie kryteriów

oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Na tej podstawie wnioskuję o nadanie Jej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.